

NCI-H82-celler | 300442

Generell informasjon

Description NCI-H82-cellelinjen ble avledet av A.F. Gazdar og medarbeidere i 1978 fra pleuravæske fra en pasient med småcellet lungekreft. Morfologien til den opprinnelige svulsten var ikke karakteristisk for SCLC. Linjen er en biokjemisk og morfologisk variant av SCLC som uttrykker nevronspezifikk enolase og hjerne-isoenzymet kreatinkinase. Den har ikke påvisbare nivåer av L-DOPA-dekarboksylase eller bombesin. Cellene produserer et p53-mRNA av unormal størrelse (3,7 kb). C-myc-DNA-sekvenser amplifiseres omtrent 25 ganger, og det er en 24 ganger økning i c-myc-RNA i forhold til normale celler. Cellene uttrykker funksjonelle ANP-reseptorer, men behandling med ANP endrer ikke vekstmønsteret. Cellene farges positivt for neurofilamenter og vimentin. Det er uttrykk av v-fes, v-fms, Ha-ras, Ki-ras, N-ras og c-raf 1 mRNA.

Organism Menneskelig

Tissue Lunge

Disease Småcellet lungekarsinom

Metastatic site Pleuraeffusjon

Synonyms NCI-H-82, H82, H-82, NCI H82, NCIH82, H82sclc

Kjennetegn

Age 41 år

Gender Mann

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Aggregater i suspensjon. Cellene vokser i svært store aggregater, som er den eneste levedyktige cellepopulasjonen i kulturen.

Regulatoriske data

Citation NCI-H82 (Cytion katalognummer 300442)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

NCI-H82-celler | 300442

CellosaurusAccession CVCL_1591

Biomolekylære data

Receptors expressed

Insulinlignende vekstfaktor II-reseptor (IGF II), atrialt natriuretisk peptid (ANP)

Protein expression

P53-positiv

Isoenzymes

G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, Fenotypefrekvensprodukt = 0,0082

Tumorigenic

Ja, danner transplanterbare svulster med ikke-typisk SCLC-histologi i nakenmus

Karyotype

Dette er en nær triploid human cellelinje. Det modale kromosomantallet er 58, med en forekomst på 44 % og polyploidi på 3 %. Hver celle hadde to kopier av et normalt x-kromosom. Y-kromosomet ble ikke påvist i Q-båndpreparater.

Håndtering

Culture MediumRPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements**

Suppler mediet med 10 % FBS

SubculturingOppretthold kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på 5×10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området 3×10^5 til 1×10^6 celler/ml for optimal vekst.**Split ratio**

Et forhold på 1:2 til 1:5 anbefales

Fluid renewal

2 til 3 ganger per uke

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

NCI-H82-celler | 300442

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NCI-H82-celler | 300442

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

CSF1PO: 11
D13S317: 8
D16S539: 12
D5S818: 12
D7S820: 10,13
TH01: 9,9,3
TPOX: 11
vWA: 14
D3S1358: 17
D21S11: 28,3
D18S51: 14,18
Penta E: 11,12
Penta D: 10,12
D8S1179: 13
FGA: 24,25